



Karakterisasi Metabolit Sekunder Ekstrak Diklorometana dari Spons *Petrosia alfiani* Sebagai Antioksidan

Ibtisamatul Aminah¹⁾, Hanapi Usman²⁾, Ahyar Ahmad²⁾

¹⁾Program Sarjana Universitas Hasanuddin

²⁾Jurusan Kimia Universitas Hasanuddin

ABSTRACT

Sponge is one of the marine life that contain bioactive compounds are prospective for development in a variety of purposes as a raw material for medicine, cosmetics, pesticides and other foodstuffs. Isolation and identification of secondary metabolites from dichloromethane extract of sponge *Petrosia alfiani* from Barrang Lompo's island, Makassar, South Sulawesi has been done. Isolation techniques performed using maceration method, partition and vacuum column chromatography. A compound obtained as 128,1 mg of white needle-shaped crystals which have a melting point of 136-138 °C is known as β -sitosterol compounds. Antioxidant testing with DPPH, β -sitosterol compounds are not active as an antioxidant with IC₅₀ value of 372.23 mg/mL. Although, it was also found three isolates named with B, C and D that based on the phytochemical test is known that these three classes of terpenoid compounds.

Keywords: *Sponges Petrossian alfiani*, β -sitosterol, Antioxidants

PENDAHULUAN

Laut dapat dipandang sebagai gudang zat kimia yang amat besar, karena di dalamnya hidup jutaan biota laut yang sesungguhnya merupakan pabrik zat kimia yang paling canggih di atas bumi ini. Banyak sekali zat kimia berupa biomolekul yang diproduksi melalui "biosintesis" oleh organisme laut yang tidak dapat disintesis di laboratorium secara "in-vitro". Semua biomolekul tersebut dihasilkan oleh organisme bukan secara kebetulan dan tidak tanpa tujuan, melainkan diciptakan secara teratur dan bermakna bagi kelangsungan hidup organisme di muka bumi ini, termasuk manusia (Usman dkk., 2014).

Biota laut merupakan sumber daya alam yang melimpah di muka bumi ini dan memiliki potensi sebagai sumber bahan bioaktif yang prospektif untuk dikembangkan dalam berbagai keperluan, yakni sebagai bahan baku obat, kosmetik dan bahan pangan lainnya (Trianto dkk., 2004).

Spons merupakan salah satu biota laut yang banyak ditemukan di terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang pada umumnya persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa serupa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 2005).

Beberapa tahun terakhir, terlihat adanya kecenderungan penelitian yang semakin besar terhadap spons, karena ditemukan banyak manfaat dari senyawa bahan alam yang dikandungnya dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Telah dilaporkan bahwa ekstrak dari spons mengandung berbagai senyawa bioaktif yang diketahui mempunyai bioaktivitas sitotoksik dan antitumor (Kobayashi dan Rachmaniar, 1999), antivirus (Munro dkk., 1987), anti HIV dan antiinflamasi, antifungi (Muliani dkk., 1998), antileukimia (Soediro, 1999), penghambat aktivitas enzim (Soest and Braekman, 1999).

Genus *Petrosia* adalah salah satu kelompok spons yang memiliki beragam senyawa bioaktif, antara lain asam kortikatat sebagai antijamur dari spons *Petrosia corticata* (Soediro, 1999), sedangkan data dari Soest dan Braekman (1999) menemukan beberapa senyawa bioaktif dari famili *Petrosidae* diantaranya polihidroksilat asetilin, siklik 3-alkilpiperidin, dan siklopropenasterol. Selain itu beberapa senyawa aktif yang telah ditemukan dan dilaporkan dari genus *Petrosia* adalah alkaloid manzamine-A bersifat sitotoksik (El sayed dkk., 2001). Pada *Petrosia sp.* ditemukan senyawa poliasetilen, dideoxypetrosynol A yang menunjukkan aktivitas antitumor pada sel melanoma kulit manusia (Cho dkk., 2004). Aktivitas antibakteri juga ditemukan pada hasil isolasi dari spons laut *Petrosia contignata*, yaitu Taraxeron dan D-homoandrostane (Sutedja dkk., 2005). Senyawa antibakteri epidioksi sterol dari spons laut *Petrosia nigrans* juga telah diisolasi dan dikarakterisasi dengan rumus molekul C₂₉H₄₈O₃ dengan nama 5,8-epidioksi-24-etilcolest-6-en-3-ol (Handayani dkk., 2011).

Berdasarkan kajian literatur, spons *Petrosia* mengandung banyak metabolit sekunder dan umumnya memiliki bioaktivitas yang kuat. Oleh sebab itu, diperlukan penelitian yang lebih komprehensif.

Spons *Petrosia alfiani* adalah spesies yang baru ditemukan dan endemik di kawasan perairan Spermonde, diduga spons ini mengandung banyak metabolit sekunder yang berguna dan memungkinkan ditemukannya metabolit sekunder yang baru. Sejauh ini belum ada penelitian mengenai isolasi spons *P. alfiani* menggunakan pelarut diklorometana. Oleh karenanya, perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi kandungan metabolit sekunder dalam pelarut tersebut.

Tujuan penelitian ini yaitu mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa metabolit sekunder ekstrak diklorometana pada spons *P. alfiani* dan melakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan larutan DPPH



(1,1-diphenyl-2-picryl-hydazyl) dari senyawa metabolit sekunder ekstrak diklorometana pada spons *P. alfiani*.

METODE PENELITIAN

a. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spons *Petrosia alfiani*, metanol teknis, n-heksana teknis, etil asetat teknis, aseton teknis, kloroform p.a., diklorometana p.a., silika gel 7730, silika gel 7734, silika gel 7733 plat KLT, kertas saring whatman, kertas saring biasa, aluminium foil, tissue, akuades, CeSO_4 , plat KLT preparatif, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, pereaksi Liberman-Burchard dan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydazyl).

b. Prosedur Penelitian

1. Penyiapan dan Pengolahan Sampel

Sampel diambil langsung dari laut dengan menggunakan peralatan SCUBA. Sampel segar dicuci dan dibersihkan kemudian disimpan dalam plastik. Sampel kemudian disimpan dalam ice box sampai digunakan. Sebelum digunakan, sampel dikeringkan dan digerus terlebih dahulu. Sampel diidentifikasi taksonominya di Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Kelautan Jurusan Biologi FMIPA UNHAS.

2. Ekstraksi

Isolat Sampel yang telah dikeringkan kemudian digerus dan ditimbang bobot keringnya sebanyak 1,2 kg. Sampel kering kemudian dimaserasi dengan menggunakan metanol selama 1×24 jam. Maserasi diulangi dengan volume metanol yang sama sebanyak 3 kali. Hasil maserasi kemudian ditampung untuk diuapkan menggunakan rotary evaporator.

Ekstrak metanol hasil penguapan dipartisi dengan diklorometana dan selanjutnya diuapkan lagi dengan menggunakan evaporator. Hasil penguapan ekstrak dari fraksi diklorometana lalu dianalisis dengan KLT dan diuji aktivitasnya dengan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydazyl).

3. Isolasi

Ekstrak diklorometana yang telah dikurangi pelarutnya kemudian dipisahkan fraksi-fraksinya dengan memakai kromatografi kolom. Fraksinasi dilakukan dengan kromatografi kolom vakum (KKV), dengan menggunakan eluen n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 7:3, 6:4, 5:5, dan 4:6. Hasil fraksinasi dianalisis dengan KLT menggunakan eluen yang sesuai agar dapat menggabungkan fraksi-fraksi yang sama. Kromatogram yang baik ditandai dengan terpisahnya masing-masing noda. Dari noda tersebut akan dihitung nilai R_f -nya. Senyawa murni harus menunjukkan noda tunggal pada tiga macam sistem eluen.

4. Identifikasi

Pada tahap ini senyawa murni yang diperoleh diuji kemurniannya dengan mengukur titik leleh dan juga analisis KLT pada tiga macam sistem eluen. Data spektroskopi diperoleh dengan mengukur senyawa murni melalui alat spektroskopi FT-IR Shimadzu.

5. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH yang telah dimodifikasi. Senyawa ekstrak diklorometana dengan variasi konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 30 $\mu\text{g/mL}$, dan 40 $\mu\text{g/mL}$, lalu masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL sebanyak 0,05 mL, 0,1 mL, 0,15 mL, dan 0,2 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM. Volume dicukupkan sampai 5 mL dengan metanol, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit selanjutnya absorbansi masing-masing larutan di atas diukur pada panjang gelombang maksimum 500 nm. Panjang gelombang maksimum ditentukan oleh kontrol. Perlakuan yang sama dilakukan pada asam askorbat. Hasil penetapan antioksidan dibandingkan dengan asam askorbat sebagai pembanding. Semakin banyak radikal DPPH yang dinetralisir ditunjukkan oleh semakin pudarnya warna campuran reaksi atau semakin besar selisih absorbansi terhadap kontrol. Adapun % aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan persamaan (Zuhra dkk., 2008):

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Diklorometana dari Spons *Petrosia alfiani*

Spons yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini diambil di sekitar Pulau Barrang Lompo, Makassar, Sulawesi Selatan. Sampel diidentifikasi di Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Kelautan, Jurusan Biologi FMIPA UNHAS dengan spesies *Petrosia alfiani*.

Sampel yang kering sebanyak 1,2 kg dimaserasi menggunakan metanol menghasilkan maserat kental metanol. Maserat tersebut diekstraksi dengan perbandingan 1:2 antara volume maserat kental metanol dan pelarut diklorometana, diperoleh ekstrak diklorometana yang berupa residu berwarna coklat kehitaman sebanyak 24,48 gram. Selanjutnya dilakukan pemisahan kromatografi kolom vakum (KKV) menggunakan eluen n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan berturut-turut 7:3, 6:4, 5:5, dan 4:6. Pada tahap ini diperoleh 39 fraksi, fraksi-fraksi yang memiliki nilai R_f yang sama digabung sehingga diperoleh 5 isolat (kelompok fraksi) dengan berat masing-masing 1,99 g; 0,43 g; 0,99 g; 0,13 g dan 0,25 g. Berdasarkan berat masing-masing isolat mengindikasikan isolat I dan III yang paling prospektif untuk dianalisis lebih lanjut.

Isolat I sebanyak 1,99 gram berbentuk jarum (amorf) berwarna hijau, hasil analisis KLT menunjukkan 2 noda. Setelah direkristalisasi sebanyak 2 kali dengan pelarut metanol panas didapatkan kristal putih sebanyak 128,1 mg, disebut senyawa A. Titik leleh senyawa A adalah 136-138°C, uji KLT dengan menggunakan tiga macam sistem eluen menunjukkan noda tunggal, hal tersebut menandakan bahwa senyawa A sudah murni. Uji Fitokimia senyawa A menggunakan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat memberikan warna biru menunjukkan reaksi positif sebagai golongan steroid.



Isolat III berbentuk endapan coklat kehitaman sebanyak 0,99 gram diolah dengan KLT preparatif menggunakan eluen 10% EtOAc dan 90% n-heksana. Berdasarkan kromatogram hasil analisis KLT dari isolat tersebut, diperoleh beberapa noda yang terlihat pada lampu UV-shortwave dan UV-longwave yang menghasilkan 5 isolat utama yaitu III₁-III₅.

Isolat III₁ berbentuk padatan bening yang menempel pada dinding vial sebanyak 35,7 mg, dilakukan analisis KLT menggunakan eluen EtOAc dan n-heksana dengan perbandingan 9:1. Hasil analisis KLT terhadap isolat III₁ menunjukkan noda tunggal terlihat pada lampu UV-shortwave dan UV-longwave, selanjutnya isolat III₁ dinyatakan sebagai senyawa B. Uji fitokimia terhadap senyawa B dengan penambahan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat memberikan warna kemerahan, menunjukkan reaksi positif sebagai golongan terpenoid.

Isolat III₂ berbentuk padatan bening yang menempel pada dinding vial sebanyak 41,7 mg, dilakukan analisis KLT menggunakan eluen n-heksana dan EtOAc dengan perbandingan 9:1. Hasil analisis KLT terhadap isolat III₂ menunjukkan noda tunggal terlihat pada lampu UV-longwave, yang selanjutnya isolat III₂ dinyatakan sebagai senyawa C. Uji kemurnian senyawa C dilakukan melalui analisis KLT dengan menggunakan tiga macam sistem eluen dan noda tunggal. Uji fitokimia senyawa C dengan penambahan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat memberikan warna merah, menunjukkan reaksi positif sebagai golongan terpenoid

Isolat III₃ berbentuk padatan bening yang menempel pada dinding vial sebanyak 35,5 mg, dilakukan analisis KLT menggunakan eluen EtOAc dan n-heksana dengan perbandingan 9:1. Hasil analisis KLT terhadap isolat III₃ menunjukkan noda tunggal terlihat pada lampu UV-shortwave dan UV-longwave, selanjutnya isolat III₃ dinyatakan sebagai senyawa D. Uji fitokimia terhadap

senyawa D dengan penambahan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat memberikan warna kemerahan, menunjukkan reaksi positif sebagai golongan terpenoid.

Isolat III₄ dan Isolat III₅ dilakukan analisis KLT menggunakan eluen EtOAc dan n-heksana dengan perbandingan 9:1. Kromatogram hasil analisis KLT dari fraksi tersebut menunjukkan beberapa noda yang terlihat pada lampu UV-shortwave dan UV-longwave. Uji fitokimia terhadap isolat III₄ dengan penambahan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat memberikan warna biru yang menunjukkan reaksi positif sebagai golongan steroid. Uji fitokimia terhadap isolat III₅ dengan penambahan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat memberikan warna merah yang menunjukkan reaksi positif sebagai golongan terpenoid. Namun, kedua isolat tersebut memiliki jumlah yang sangat sedikit sehingga tidak dapat dilanjutkan ke tahap pemisahan.

2. Identifikasi dan Analisis Terhadap Senyawa A

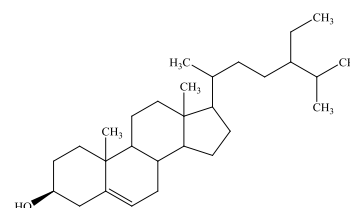
Senyawa A sebanyak 128,1 mg berbentuk kristal jarum berwarna putih yang memiliki titik leleh 136-138 °C dan diidentifikasi dengan menggunakan spektroskopi FT-IR Shimadzu.

Data spektrum IR pada senyawa A memperlihatkan pita serapan pada daerah 3437,15 cm⁻¹ yang mengidentifikasikan adanya gugus O-H. Serapan 2935,66 cm⁻¹ dan 2868,15 cm⁻¹ untuk C-H alifatik yang didukung adanya serapan pada 1463,97 cm⁻¹. Serapan pada 1662,64 cm⁻¹ untuk gugus C=C, 1377,17 cm⁻¹ untuk gugus C-O dan 1047,35 cm⁻¹ merupakan sikloalkana. Spektrum tersebut menunjukkan kesamaan yang signifikan jika dibandingkan dengan spektrum IR β -sitosterol yang telah dilaporkan oleh Rahmayanti (2015) (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan Pita Serapan IR Senyawa A dan β -sitosterol (Rahmayanti, 2015)

No	Pita Serapan (cm ⁻¹)		Gugus Fungsi
	Senyawa A	β -sitosterol	
1	3437,15	3421,72	O-H
2	2935,66 dan 2868,15	2958,80 dan 2866,22	C-H alifatik
3	1662,64	1666,50	C=C
4	1463,97	1463,97	CH ₂
5	1377,17	1375,25	C-O
6	1047,35	1055,06	Sikloalkana

Kromatogram hasil analisis KLT dengan membandingkan senyawa A dengan β -sitosterol menunjukkan karakter yang sama yakni nilai R_f dari keduanya sama begitupun warna noda sama (lampiran 3g). Berdasarkan penjelasan di atas, maka dapat dipastikan bahwa senyawa A adalah β -sitosterol, dengan struktur molekul sebagai berikut.



Gambar 1. Struktur β -sitosterol



3. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan secara in vitro menggunakan metode perendaman radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picryl-hydazyl (DPPH), analisis dilakukan berdasarkan metode Kubo dkk., (2002) untuk menentukan aktivitas antioksidan (%) dengan sedikit modifikasi (Prangdimurti dkk., 2006). Prinsip dari metode ini adalah berdasarkan pada kemampuan sampel dalam menangkap radikal bebas DPPH melalui donor atom hidrogen atau elektron.

Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini berdasarkan dari hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan. Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometri UV-Vis 20D+ (Molyneux, 2004).

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan terhadap senyawa A dan asam askorbat sebagai pembanding pada masing-masing konsentrasi 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL dan 40 µg/mL dengan panjang gelombang maksimum 500 nm dengan absorbansi kontrol sebesar 0,355 pada senyawa A dan dan asam askorbat sebagai pembanding pada masing-masing konsentrasi 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL dan 40 µg/mL dengan panjang gelombang maksimum 500 nm dengan absorbansi kontrol sebesar 0,355 pada senyawa A dan 1,22 pada asam askorbat, yang dapat terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan senyawa A dan Asam Askorbat.

No	Konsentrasi (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan (%)	
		Senyawa A	Asam Askorbat (Pembanding)
1	10	-1,41	47,87
2	20	0,85	42,62
3	30	3,94	47,87
4	40	2,25	54,92
5	50	-2,25	60,66

Berdasarkan data aktivitas antioksidan pada tabel di atas, maka dapat dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan aktivitas antioksidan (y) sehingga diperoleh nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi larutan uji yang diperlukan untuk merendam DPPH sebesar 50 % (Molyneux, 2004). Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan pada senyawa A maupun asam askorbat yang artinya semakin kecil IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Dari data perhitungan yang telah dilakukan, didapatkan data IC_{50} yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai IC_{50} dari senyawa A dan Asam Askorbat

No	Larutan Uji	Nilai IC_{50} (µg/mL)
1	Senyawa A	372,23
2	Asam Askorbat	2,723

Tabel 3 diatas menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang terdapat pada senyawa A dan asam askorbat. Namun berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh dari senyawa A mempunyai aktivitas antioksidan yang bersifat tidak aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 372,23 µg/mL dan asam askorbat sebagai pembanding mempunyai aktivitas antioksidan yang bersifat aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 2,723 µg/mL. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 µg/mL, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 µg/mL, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 µg/mL, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 µg/mL (Molyneux, 2004). Sehingga senyawa A ekstrak diklorometana dari spons *Petrosia alfiani* kurang berpotensi sebagai zat antioksidan.

Reduksi DPPH menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil baik yang terdapat pada senyawa A maupun pada asam askorbat. Suatu senyawa dilaporkan dapat bersifat sebagai antioksidan disebabkan kemampuannya menangkap radikal-radikal bebas dan oksigen aktif. Namun aktivitas antioksidan yang kuat sangat dipengaruhi oleh banyaknya gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi yang terdapat pada senyawa. Seperti halnya pada asam askorbat yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat disebabkan kemampuannya menangkap radikal bebas oleh adanya beberapa gugus hidroksil yang dimilikinya dengan membentuk radikal baru. Radikal yang terbentuk tersebut mampu distabilkan lebih lanjut dengan adanya delokalisasi kedalam cincin dengan membentuk radikal yang lebih stabil. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dikatakan bahwa senyawa A memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat kurang aktif disebabkan karena senyawa A memiliki gugus hidroksil dalam jumlah yang sangat sedikit.

KESIMPULAN

Penelitian ini telah berhasil mengekstraksi dan mengisolasi empat isolat fraksi diklorometana dari spons *P. alfiani*. Senyawa A sebanyak 128,1 mg berbentuk kristal jarum berwarna putih yang memiliki titik leleh 136-138 °C diketahui sebagai senyawa β-sitosterol. Berdasarkan uji fitokimia terhadap senyawa B, C dan D menunjukkan senyawa tersebut merupakan golongan terpenoid. Pengujian aktioksidan dengan metode DPPH, senyawa β-sitosterol bersifat tidak aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 372,23 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, J., Dewi, P., dan Hanafi, M., 2010, *Teknologi Pemurnian Senyawa Dengan Metoda Kromatografi*, Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi, Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Amir, I., dan Budiyanto, 1996, Mengenal Spons Laut (*Demospongiae*) Secara Umum, *Oseana*, **21**(2), 15 – 31.



- Aoki, S., Naka, Y., Itoh, T., Furukawa, T., Rachmat, R., Akiyama, S., and Kobayashi, M., 2002, Lembehsterols A and B, Novel Sulfated Sterols Inhibiting Thymidine Phosphorylase, from the Marine Spons *Petrosia strongylata*, *Chem. Pharm. Bull.*, **50**(6) 827-830.
- Ashour, M. A. A., 2006, *Structure Elucidation of Bioactive Marine Natural Products Using Modern Methods of Spectroscopy*, Dissertation, der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf,
- Bergman, W., dan Feeney, R. J., 1990, Contribution to the study of marine sponges, the nucleosides of sponges, *Journal Organic Chemistry*, **16**, 981-987.
- Braekman, J. C., and Daloze, D., 1986, Chemical Defence in Spons, *Pure and Appl. Chem*, **58**(3), 357-364.
- Braekman, J. C., Daloze, D., Defay, N., and Zimmermann, D., 1984, Petrosin-A and -B, two new bis-quinolizidine alkaloids from the sponge *Petrosia Seriata*, *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges*, **93**(11), 941-944.
- Cho, H. J., Ja Bae S., Kim, N. D., Jung, H. J., and Cho, Y. H., 2004, Induction of Apoptosis by Dideoxypetrosynol A, A Polyasetylene from Spons *Petrosia sp.*, in Human Skin Melanoma Cells, *International Journal of Molecular Medicine*, **1**, 1091-1096.
- De Voogd, N. J., and Van Soest, R. W. M., 2002, *Indonesian Sponge of the Genus Petrosia*, Zool. Med. Leidan, 76.
- El Sayed, K. L., Kelly, M., Kara, U. K., Ang, K. H., Katsuyama, I., Dunbar, D.C., Khan, A. A., and Hamann, M.T., 2001, New Manzamine Alkaloids with Potent Activity against Infectious Disease, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 1804 - 1808.
- Gemini, A., Astuti, P., Wahyuono, S., Sari, D., and Hamman, M. T., 2005, Structure elucidation of bioactive compounds isolated from sponge *Petrosia sp.* collected from Bunaken Bay Manado, *Indonesian J. Chem.*, **5**(2), 35-38.
- Goud, T. V., Reddy, N. S., Swamy, N. R., Ram, T. S., and Venkateswarlu, Y., 2003, Anti-HIV Active Petrosins from the Marine Spons *Petrosia similis*, *Biol Pharm. Bull*, **26**(10), 1498-1501.
- Handayani, D., Sayuti, N., Dachriyanus, dan Van Soest, R. W. M., 2011, Epioksi sterol, senyawa antibakteri dari spon laut *Petrosia nigrans*, *Jurnal Bahan Alam*, **7**(6), 289-293.
- Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia Sp.* Dari Kepulauan Seribu, *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, **2**(3), 127-133.
- Harborne, J. B., 2006, *Metode fitokimia: Penuntun cara modern mengana-lisis tumbuhan* Edisi IV, Terjemahan oleh Kokasih P. dan I. Soediro, ITB, Bandung, 354.
- Khalaf, A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., dan Farah, H., 2008, Antioxidant activity of Some Common Plants, *Turk. J. Biol.*, **32**, 51-55.
- Kong, F., Zhang, M., Liao, S., Yu, S., Chi, J., dan Wei, Z., 2010, *Antioxidant Activity of Polysaccharide-enriched Fractions Extracted from Pulp Tissue of Litchi Chinensis sonn*, *Molecules*, **15**, 2152-2165.
- Kim, J. S., Im., K. S., Jung., J. H., Kim., Y. L., J. Kim., Shim, C. J., and Lee, C. O., 1998., New bioactive polyacetylenes from the marine sponge *Petrosia sp.*, *Tetrahedron*, **54**, 3151-3158.
- Kobayashi, M., dan Rachmaniar, R., 1999, *Overview of Marine Natural Product Chemistry*, Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I '98. Jakarta 14 - 15 Oktober 1998, 23 - 32.
- Liu, Y., Ji, H., Dong, J., Zhang, S., Lee, J. K., and Matthew, S., 2008, Antioxidant Alkaloid from the South China Sea Marine Sponge *Iotrochota sp.*, *Z. Naturforsch*, **63**, 636-638.
- Marliana, E., 2007, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus Ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan, *Jurnal Penelitian MIPA*, **1**(1), 23-29.
- Molyneux, P., 2004, The Use of the Stable Free Radical Dyphenylpicrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Sci. Technol.*, **26**, 211-219.
- Muliani, Suryati, E., Tompo, A., Parenrengi, A., Rosmiati, 1998, Isolasi Bioaktif Bunga Karang Sebagai Fungisida pad Benih Udang *Windu Penaeus monodon*, *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, **4**(2).
- Muniarsih, T., dan Rachmaniar R., 2005, *Isolasi Substansi Bioaktif Antimikroba dari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu*, Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta, 14 - 15 Oktober 2004, 151 - 158.
- Munro, M. H. G., Luibrand, R. T., and Blunt, J. W., 1989, The Search for Antiviral and Anticancer Compounds from Marine Organisms. Di dalam Scheuer PJ (ed.). *Bioorganic Marine Chemistry*, **1**, 94 - 176.
- Murti, Y., B., 2003, *Isolation and Structure Elucidation of Bioactive Secondary Metabolites from Sponges Collected at Ujungpandang and In The Bali Sea, Indonesia*, Dissertation, Institute for Pharmaceutical Biology and Biotechnology, Heinrich-Heine University, Duesseldorf, Germany.
- Nakagawa, M., Endo, M., Tanaka, N., And Pei, L. G., 1984, Structures of Xestospongins A, B, C and D, Novel Vasodilative Compounds from Marine Sponge *Xestospongia exigua*, *Tetrahedron Letters*, **3**, 3227-3230.
- Orhan, I. E., Ozcelik, B., Konuklugil, B., Putz, A., Kaban, U. G., and Proksch, P., 2012, Bioactivity Screening of the Turkish Marine Sponges and



- Three Compounds from *Agelas oroides*, *Rec. Nat. Prod.*, **6**(4), 356-367.
- Rachmaniar, R., 1996, *Penelitian Produk Alam Laut Skreening Substansi Bioaktif*, Laporan Penelitian Tahun Anggaran 1995/1996, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Puslitbang Oseanologi.
- Rahmayanti, 2015, *Kakterisasi dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat dari Spons Petrosia alfiani Asal Pulau Barrang Lompo*, Program Studi Kimia, Pascasarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Rasyid, A., 2008, Biota Laut Sebagai Sumber Obat-Obatan, *Oseana*, **33**(1), 11-18.
- Romimohtarto, K., dan Juwana, S., 1999, *Biologi Laut: Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut*, Djambatan, Jakarta.
- Ruppert, E. E., and Barnes, R. D., 1991, *Invertebrates Zoology*, Sixth Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia, New York, Chicago, San Fransisco, Montreal, Toronto, London, Sidney, Tokyo, 68 – 91.
- Shamsuzzaman, Asif, M., Ali, A., Mashrai, A., Khanam, H., Sherwani, A., and Owais, M., 2014, Design, Synthesis And Biological Evaluation Of Steroidal Tetrazoles As Antiproliferative and Antioxidant Agents, *Eur. Chem. Bull.*, **3**(11), 1075-1080.
- Sandoval, I. T., Davis, R. A., Bugni, T. S., Concepcion, G. P., Harper, M. K., and Ireland, C. M., (tanpa tahun), Cytotoxic Isoquinoline Quinones from Sponges of the Genus *Petrosia*. *J. Chem.*, **3**(2), 97-100.
- Seo, Y., Cho., K. W., Rho, J., and Shin J., 1998, Petrocortynes and petrosiacetylenes, novel polyacetylenes from a sponge of the genus *Petrosia*, *Tetrahedron*, **54**, 447-462.
- Soediro, I. S., 1999, *Produk Alam Hayati Bahari dan Prospek Pemanfaatannya di Bidang Kesehatan dan Kosmetika*, Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I '98, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Jakarta, 14 – 15 Oktober 1998, 41 – 52.
- Soest, R. W. M. V., and Braekman J. C., 1999, *Chemosystematics of Porifera*, A Review, Memoir of the Queensland Museum, **44**, 569 - 589.
- Suparno, 2005, Kajian Bioaktif Spons Laut (porifera: Demospongiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia Dalam Dibidang Farmasi, *Jurnal Perikanan Indonesia*, **24**(21), 41-45.
- Sutedja, L., Udin, L. Z., dan Manupputy, A., 2005, *Antimicrobial Activity of the Spons Petrosia contignata Thiele*, Sistem Informasi Dokumen Kegiatan Pusat Penelitian Kimia LIPI, Bandung.
- Tamat, S. R., Wikanta, T., dan Maulina, L. S., 2007, Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva Reticula* Forsskal, *J. I. Farm. In*, **5**(1), 31-36.
- Trianto, A., Ambariyanto, dan Murwani, R., 2004, Skrining Bahan Anti Kanker pada Berbagai Jenis Sponge dan Gorgonian Terhadap L1210 Cell Line, *Jurnal Ilmu Kelautan*, **9**(3), 120-124.
- Ueoka, R., Ise, Y., and Matsunaga, S., 2009. Polyacetylenes related to Petroformyne-1 from the marine sponge *Petrosia sp.*, *Tetrahedron*, **65**, 5204-5208.
- Usman, H., 2012, *Dasas-Dasar Kimia Organik Bahan Alam*, Dua Satu Press, Makassar
- Usman, H., Ahmad, A., Kasim, S., Bahar, R., dan Johannes, E., 2014, *Isolasi, Karakterisasi, Bioaktivitas dan Sintesis Biomolekul Metabolit Sekunder Antimikroba dan Antikanker dari Spons Petrosia alfiani*, Laporan Penelitian Berbasis Kompetisi Internal, Jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Makassar.
- Wade, L. G., 2006, *Organic Chemistry*, 6th edition, Pearson Education, New Jersey.
- Warren, L., 1982, *Encyclopedia of Marine Invertebrates*, Di dalam Walls JG (ed.), 15-28.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J., dan Sihotang, H., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.), *J. Bio. Sum.*, **1**(3), 7-10